

适宜大叶黄杨茎段不同组织培养阶段的培养基研究*

林海

(鹤壁职业技术学院, 河南 鹤壁 458030)

摘要: 以MS为基本培养基, 附加不同种类、浓度的生长调节剂, 通过试验寻求适宜于大叶黄杨茎段各组织培养阶段的培养基。研究表明: 在诱导培养阶段, 较低浓度的细胞分裂素能促进大叶黄杨茎段侧芽的萌发, 其适宜的诱导培养基为MS + BA 0.5 mg/L; 继代增殖阶段, 以MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + GA₃ 2.0 mg/L为培养基效果较好; 生根阶段, 最适宜的培养基为1/2 MS + NAA 0.5 mg/L。

关键词: 大叶黄杨; 茎段外植体; 组织培养; 培养基

中图分类号: S 722.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-8246 (2006) 02-0102-03

A Study on Stem Tissue Culture Medium Suitable for Different Culture Stage of *Buxus megistophylla*

LIN Hai

(Hebi College of Vocation and Technology, Hebi Hunan 458030, P. R. China)

Abstract: Taking MS as the basic medium, adding different plant growth regulators of different concentrations, the tissue culture medium of *Buxus megistophylla* at different culture stage was studied. The results of study indicated that at the inducing stage, low concentrated cytokinin was benefit for the formation of lateral bud, and the suitable medium was MS + BA 0.5 mg/L, the suitable medium for subculture was MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + GA₃ 2.0 mg/L, and the recommended medium for rooting stage was 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L.

Key words: *Buxus megistophylla*; stem plantlet; tissue culture; medium

大叶黄杨 (*Buxus megistophylla*) 是我国北方地区园林绿化的一种重要常绿阔叶优良树种。近年来随着对大叶黄杨苗木数量和质量需求的不断提高, 其传统无性繁殖方式的弊端日趋凸现, 通过组织培养建立大叶黄杨无性繁殖体系是获取高质量和高数量苗木行之有效的途径。为此, 我们以大叶黄杨茎段为材料进行了其诱导、继代及生根组织培养阶段适宜培养基的研究, 试图寻求适于大叶黄杨茎段不同组培的最佳培养基。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

组培所用的大叶黄杨枝条采自于鹤壁职业技术

学院校园内。

1.2 外植体的制备

取采集到的大叶黄杨当年生健壮枝条, 从叶柄基部剪去枝条上的叶, 将枝条切成1.0 cm长的茎段, 每段至少含1个腋芽。茎段在洗衣粉水浸泡0.5 h, 放在流水下冲洗。然后在超净工作台上用0.1%升汞消毒8 min, 用无菌水冲洗4~5次, 用无菌滤纸吸干后备用。

1.3 接种程序

将晾干的大叶黄杨茎段接种到诱导培养基上进行诱导培养, 待茎长到1.5 cm左右时, 切下茎段上的新芽接种到继代培养基上进行继代增殖培养, 此后再移至生根培养基上进行生根培养。细弱的芽苗可通过一次扶壮后, 再进行生根培养。将生根的

* 收稿日期: 2005-11-10

作者简介: 林海 (1970-), 男, 河南汝南人, 讲师, 主要从事园林植物栽培教学与研究。

无菌苗移至苗床上继续作常规的苗木培育。

1.4 培养条件

白糖3%, 琼脂0.7%, 光照14~16 h, 光照强度2 000~2 500 Lx, 温度22±2℃。

2 结果与分析

2.1 不同诱导培养基的效果

大叶黄杨带腋芽的茎段接种到不同的诱导培养基上后, 其萌发的时间为3天、展叶时间为5天。各诱导培养基其茎段的萌发率见表1。

表1 不同诱导培养基上大叶黄杨外植体的萌发率

Tab. 1 Plantlet regeneration ratio of *Buxus microphylla* on different inducing media

培养基	萌发率/%
MS + BA0.5 mg/L	96
MS + BA1.0 mg/L	80
MS + BA0.5 mg/L + NAA0.1 mg/L	64
MS + BA0.5 mg/L + NAA0.2 mg/L	72
MS + BA1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L	70
MS + BA2.0 mg/L + NAA0.1 mg/L	66

从表1可以看出, 大叶黄杨茎段在不同的培养基中的萌发率不同, 但它们的萌发及展叶的时间相对较短。以单独使用细胞分裂素(BA)的MS + BA0.5 mg/L培养基的诱导萌发率最高, 为96%。当BA的浓度提高到1.0 mg/L时, 其萌发率下降到80%。而在诱导培养基中细胞分裂素(BA)和生长素(NAA)配合使用不利于大叶黄杨茎段外植体的萌发, 其萌发率低于80%。综上所述, 以萌发率作为评价标准, MS + BA0.5 mg/L为大叶黄杨茎段的最适诱导培养基。

表2 不同继代培养基上大叶黄杨芽苗的增殖系数

Tab. 2 The multiplication coefficient of *Buxus microphylla* bud on different subculture media

培养基	增殖系数
MS + BA1.0 mg/L + NAA0.05 mg/L	1.92
MS + BA1.5 mg/L + NAA0.05 mg/L	2.18
MS + BA2.0 mg/L + NAA0.05 mg/L	2.22
MS + BA1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L	1.50
MS + BA1.0 mg/L + NAA0.5 mg/L	1.66
MS + BA2.0 mg/L + NAA0.1 mg/L	1.00
MS + BA1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L + GA ₃ 2.0 mg/L	5.80

2.2 不同继代培养基的效果

经诱导培养后进行继代增殖培养试验, 从而筛选出最佳继代培养基, 结果见表2。

由表2可以看出, 在继代培养基中配合使用细胞分裂素和生长素, 其大叶黄杨组培苗的增殖效果较好。当NAA浓度为0.05 mg/L时, BA无论浓度如何, 大叶黄杨芽苗的增殖系数均高, 平均增殖系数在2左右。随着NAA浓度升高, 增殖系数开始下降, 而大叶黄杨芽苗在MS + BA2.0 mg/L + NAA0.1 mg/L继代培养基中没有增殖, 当培养基加入另一种激素GA₃时, 其芽苗增殖系数达到5.80, 从增殖系数大小看, 大叶黄杨芽苗的最佳继代培养基为MS + BA1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L + GA₃2.0 mg/L。

2.3 不同生根培养基的效果

在芽苗增殖到一定数量后, 就应该将其转移至生根培养基中进行生根培养, 生根培养基的好坏直接关系到组培苗移栽的成活率。因此, 必须选择适合大叶黄杨组培苗生根的生根培养基。

表3 不同生根培养基上大叶黄杨芽苗的生根效果

Tab. 3 Rooting effect of *Buxus microphylla* on different rooting media

生根培养基	生根率	根原基	成活率
1/2MS + IBA1.0 mg/L	80		50
1/2MS + NAA0.5 mg/L		诱导	91

从表3可以看出, 具诱导根原基的幼苗进行移栽的成活率特别好, 达到90%以上, 而幼苗生根的培养基移栽成活率仅达50%, 可见大叶黄杨组培苗的生根培养应采取诱导根原基的1/2 MS + NAA0.5 mg/L培养基, 此种生根培养基能够促成大叶黄杨组培苗的生根、以致能提高其组培苗的移栽成活率。

3 结论与讨论

植物生长调节剂是在植物新陈代谢中产生的天然化合物, 它能以极微小的量影响植物的多种生理生化活动。生长素的作用主要是促进植物细胞的伸长与分裂, 诱导受伤的组织表面的一至数层细胞恢复分裂能力, 形成愈伤组织, 促进生根等。细胞分裂素有诱导植物芽的分化、促进侧芽萌发生长的作用。故细胞分裂素在诱导芽的分化上起着主导作用。

试验结果表明,在大叶黄杨茎段外植体的诱导培养中以MS培养基中加入细胞分裂素BA 0.5 mg/L为适宜的浓度。在增殖阶段BA浓度为1.0 mg/L, NAA浓度为0.1 mg/L的培养基看来是比较适宜大叶黄杨芽的增殖,不过增殖系数不理想,当增加另一种激素(GA₃)时,增殖系数达到5.8,表明GA₃与细胞分裂素和生长素配合使用可达到较高的增殖效果。在大叶黄杨组培苗的生根培养阶段,最好使用加NAA 0.5 mg/L的诱导根原基培养基,其能够提高大叶黄杨组培苗的移栽成活率。本试验只是对大叶黄杨的一个品种进行了研究,在某些方面和其他研究者的大叶黄杨组织培养研究结果具有一致性,但也有一定的差异,这可能与品种间基因型的差异和激素浓度有关,还须进一步研究。因此,在进行大叶黄杨组培快繁时,进行培养基及各

种激素的浓度配比的探讨是必要的,不能盲目照搬套用。

参考文献:

- [1]李汝明,韩碧文.植物组织培养教程[M].北京:北京农业大学出版社,1992.
- [2]赵国凡,王兴理.植物组织培养概论[M].大连:大连工学院出版社,1988.
- [3]王利民,周毅,陈龙友,等.植物组织培养中消毒剂的运用[J].贵州师范大学学报(自然科学版),2002,20(1):15-17.
- [4]董志渊,郑思乡.百合的组织培养及其在育种中的应用[J].西部林业科学,2004,33(2):64-68.
- [5]朱广廉.植物组织培养中的外植体灭菌[J].植物生理学通讯,1996,32(6):444-449.